Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 2, Summer 2022, p. 373-388

Evaluation of Drought Stress Tolerance among some of Grape Cultivars Using Physiological and Biochemical Studies

Sh. Sorori[1], A. Asgharzadeh[2]*, A. Marjani[3], M. Samadi-Kazemi[4]

Received: 05-01-2021
Revised: 27-02-2021
Accepted: 08-08-2021
Available Online: 21-08-2022

How to cite this article:
Sorori Sh., Asgharzadeh A., Marjani A., and Samadi-Kazemi M. 2022. Evaluation of Drought Stress Tolerance among some of Grape Cultivars Using Physiological and Biochemical Studies. Journal of Horticultural Science 36(2): 373-388. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.67767.1004

Introduction

Drought is one of the most important environmental stresses. It limits crop production in the world and has adverse impacts on growth of plants and their metabolic processes. By changing some of the metabolic processes, drought stress changes the behaviour of plants and, eventually, makes them resistant to some stresses. Given the water crisis in Iran, and since most of the available water is used in the agriculture sector, there is a need to change the current cropping pattern. The substitution of low-water-use for high-water-use plants could be an important water management strategy. Every physiological and biochemical factor involved in water conservation in plants is an effective factor in introducing tolerant varieties.

Materials and Methods

The required chemicals (80% acetone, 95% ethanol, ninhydrin, glacial acetic acid, benzene, proline, pure glucose, anthrone, sulfuric acid, potassium phosphate, polyvinylpyrrolidone [PVP], EDTA, hydrogen peroxide and guaiacol) were purchased from the Merck Company. This study was carried out in the spring and summer of 2019 in the Research Greenhouse of Islamic Azad University of Bojnourd. The rooted cuttings of 18 dominant grape varieties in the region (Kolahdari, KajAngoor, Fakhri, sefid Beryan, Divaneh, Sahebi, La'l, Siyah, Shiregi, Garmeh, Khalili, SanjariKajAngoor, Keshmeshi, Ghareghat, Maskeh, Asgari, Flame Seedless and White Seedless) were planted in plastic pots with a diameter of 35 cm and a height of 40 cm. The soil was a mixture of blown sand, leaf litter, and garden soil in the 1:1:1 ratio. Before the experiment, all pots were irrigated to reach field capacity.

The factorial experiment was conducted using completely randomized design with three replications. The first factor was irrigation cessation (15-day drought stress) and control (irrigation to field capacity level). The second factor was variety (18 varieties).

To apply the stress condition, irrigation cessation continued until leaf wilting signs were appeared. Based on previous experience, the duration of tolerance to drought stress was approximately 2 weeks. During the experiment, the minimum and maximum greenhouse temperatures were, respectively, 18.5 °C and 34 °C and natural light was used.

Results and Discussion

The results of analysis variance showed that drought stress significantly increased the amount of electrolyte leakage (6.29), and activities of peroxidase (0.056 katal per ml) and catalase (0.92 katal per ml). It also decreased leaf relative water content (61.95%), relative chlorophyll content (16.85) and contents of chlorophyll a (3.45 mg/g), chlorophyll b (1.12 mg/g) and carotenoids (2.84 mg/g).

1- Ph.D. Student, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Department of Horticulture, North Khorasan, Iran
2- Assistant Professor, Islamic Azad University, Shirvan Branch, Department of Horticulture, North Khorasan, Iran
(*- Corresponding Author Email: asg.ahmad@yahoo.com)
3- Assistant Professor, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Department of Agronomy, North Khorasan, Iran
4- Assistant Professor, Islamic Azad University, Bojnourd Branch, Department of Chemistry, North Khorasan, Iran

Grape varieties respond differently to drought stress and, in general, water scarcity reduces their leaf RWC and chlorophyll contents. According to Schutz and Fangmier (2001), a decrease in chlorophyll content under stress conditions is because of an increase in the production of oxygen radicals in the cell. These free radicals can cause peroxidation and decomposition of the pigments. The intensity and greenness of the leaves reduce with decreasing the chlorophyll concentration and accelerating the process of aging.Reduced greenness of the leaves under long-term stress conditions may be partially due to reduced nitrogen flow into the tissues and changing activities of such enzymes as nitrate reductase. Since nitrogen is a constituent of a chlorophyll molecule, its deficiency in plants may slow down the formation of chlorophyll. Lawlor and Cornic (2002) showed the effectiveness of carotenoid, as an auxiliary pigment, in protecting thylakoid membranes and preventing chlorophyll photo-oxidation. Drought stress increases the activity of the peroxidase and catalase enzymes in both drought-sensitive and -resistant varieties; however, the activity of antioxidative enzymes is significantly higher in the stress-resistant varieties.

The studied cultivars were divided into the three groups include of tolerant (White Seedless, Garmeh, Maskeh, Flame Seedless, Fakhri, Khalili and Divaneh), semi-susceptible (Kolahdari, Sefid Beryan, Sahebi, Laal, Shiregi, Kaj Angoor Sanjari and Asgari) and sensitive (Siah, Ghare-Ghat, Kaj Angoor Sanjari and Keshmeshi) cultivars to drought stress. Among the studied cultivars, White Seedless had the highest levels of relative leaf water (77.81%), relative chlorophyll content (28.62), carotenoids (4.81 mg/g) and the lowest amount of electrolyte leakage (31.5) and Garmeh the highest chlorophyll a (6.64 mg/g) and chlorophyll b (2.12 mg/g) contents and peroxidase (0.0618 katal per ml) and catalase activities (0.959 katal per ml).

Conclusion

The grape plant adaptation to drought stress is the result of changes in many morphological, physiological, and biochemical mechanisms, which cause changes in the rate of electrolyte leakage, leaf RWC, proline content, soluble solids, speed of photosynthesis, enzymatic activities, etc. The results showed that the white seedless variety had the highest leaf RWC, relative chlorophyll content, carotenoid content, and the lowest electrolyte leakage. Besides, Garmeh variety with the highest chlorophyll a and b, peroxidase, and catalase contents is amongst the most resistant varieties.

Keywords: Antioxidant enzymes, Chlorophyll, Drought Stress, Electrolyte leakage, Grapes

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱، ص ۳۸۸-۳۷۳

ارزیابی تحمل برخی از ارقام انگور نسبت به تنش خشکی با استفاده از مطالعات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

شیما سروری[۱]- احمد اصغرزاده[۲]*- علی مرجانی[۳]- ملیحه صمدی کاظمی[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۷

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای غیر زیستی محدود کننده رشد و نمو و تولید محصول در گیاهان باغی است. به منظور بررسی اثر قطع آبیاری بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام مختلف انگور، آزمایشی دو ساله طی سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۹، به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد اجرا شد. فاکتور اول شامل تیمار آبیاری در دو سطح (ظرفیت مزرعه‌ای و تنش خشکی ۱۵ روزه) و فاکتور دوم شامل ۱۸ رقم انگور ('کلاهداری'، 'کج انگور'، ' فخری '، ' سفید بریان '، 'دیوانه'، 'صاحبی'، 'لعل'، 'سیاه شیره'، 'شیرگی'، 'گرمه'، 'خلیلی'، 'کج‌انگور سنجری'، 'کشمشی'، 'قره‌قات'، 'مسکه'، 'عسگری'، ' فلیم سیدلس ' و 'بیدانه سفید') بود. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش معنی دار مقدار نشت الکترولیت (۶۲/۲۹)، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (۰/۰۵۶کاتال در میلی‌لیتر) و کاتالاز (۰/۹۲کاتال در میلی‌لیتر) و کاهش غلظت محتوای نسبی آب برگ (۶۱/۹۵ درصد)، میزان نسبی کلروفیل (۱۶/۸۵)، کلروفیل a (۳/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)، کلروفیل b (۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و کارتنوئید (۲/۸۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) گردید. ارقام مورد مطالعه بر اساس صفات مورد بررسی به سه گروه متحمل (بیدانه سفید، گرمه، مسکه، فلیم سیدلس، فخری، خلیلی و دیوانه)، نیمه مقاوم (کلاهداری، سفید بریان، صاحبی، لعل، شیرگی، کج انگور سنجری و عسگری) و حساس به خشکی (سیاه، قره قات، کج انگور و کشمشی) تقسیم‌بندی شدند. رقم بیدانه سفید در بین ارقام مورد مطالعه، با داشتن بالاترین میزان محتوای نسبی آب برگ (۷۷/۸۱ درصد)، میزان نسبی کلروفیل (۲۸/۶۲)، کارتنوئید (۴/۸۱ میلی‌گرم برگرم وزن تر برگ) و کمترین میزان نشت الکترولیت (۳۱/۵)، و رقم گرمه با بالاترین میزان کلروفیل a (۶/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)، کلروفیل b (۲/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و آنزیم‌های پراکسیداز (۰/۰۶۱۸ کاتال در میلی‌لیتر) و کاتالاز (۰/۹۵۹کاتال در میلی‌لیتر) جزء متحمل‌ترین ارقام بودند. با توجه به نتایج این مطالعه به‌نظر می‌رسد که رقم بیدانه سفید مقاومت بیشتری نسبت به تنش خشکی دارد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدان، انگور، تنش خشکی، کلروفیل، نشت الکترولیت

مقدمه

انگور گیاهی چند ساله با نام علمی *Vitis vinifera* از خانواده Vitaceae می‌باشد که برای رشد به تابستان‌های گرم و خشک نیاز دارد (Habibi *et al.*, 2011). کشت و کار انگور در شرایط خشک و نیمه خشک متداول بوده و شرایط نامساعد محیطی در این مناطق، رشد و نمو انگور را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدود کننده تولید محصولات گیاهی در سراسر جهان محسوب شده و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرآیندهای متابولیکی دارد (Lum *et al.*, 2014). تنش خشکی از طریق تاثیر بر برخی از فرآیندهای

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، گروه باغبانی، خراسان شمالی، ایران
۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیروان، گروه باغبانی، خراسان شمالی، ایران
۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، گروه زراعت ، خراسان شمالی، ایران
۴- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، گروه شیمی، خراسان شمالی، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: asg.ahmad@yahoo.com)
DOI: 10.22067/JHS.2021.67767.1004

متابولیسمی باعث تغییر در رفتار و نهایتا مقاوم‌سازی گیاه در مقابل برخی تنش‌ها می‌شود (Yordanov *et al*., 2000).

با توجه به وضعیت بحران آب در ایران و مصرف عمده آب در بخش کشاورزی، تجدید نظر در نوع کشت گیاهان ضروری به نظر می‌رسد. جایگزینی گیاهان دارای نیاز آبی پایین و کم توقع بجای گیاهان دارای نیاز آبی بالا می‌تواند یکی از استراتژی‌های مهم در این زمینه باشد. هر عامل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان که در حفظ آب گیاه نقش داشته باشد، می‌توانند یکی از عوامل موثر در معرفی رقم متحمل باشد (Abdalla *et al*., 2007).

برخی مطالعات حاکی از قابل اطمینان بودن محتوی آب نسبی[1] به عنوان شاخص تحمل به خشکی می‌باشند. زیرا بین میزان محتوی آب نسبی با سرعت تعرق ارتباط وجود دارد و لذا این مولفه در موارد زیادی، جهت تعیین اختلاف ارقام از نظر تحمل به خشکی استفاده می‌شود(Sinclair *et al*., 1985).

خشکی صفاتی چون رشد، عملکرد، نفوذپذیری غشاها، فتوسنتز، رنگریزه‌های فتوسنتزی و روابط آبی تنظیم اسمزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Arji *et al*., 2004). تنش خشکی یکی از مهمترین عوامل محدودکننده محیطی است که رشد و عملکرد انگور در مناطق مدیترانه‌ای است (Ghasemzadeh *et al*., 2013).

در شرایط خشکی میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. کلروفیل و پرولین هر دو از پیش‌ماده گلوتامات بوجود می‌آیند. بر اساس آزمایش انجام داده شده در دو رقم انگور خوشناو و رشه علاوه بر کاهش سرعت فتوسنتز، میزان کلروفیل در هر دو رقم مورد آزمایش کاهش نشان داده و میزان کاهش کلروفیل در رقم خوشناو بیشتر از رشه بوده است (Ghaderi *et al*., 2006). کاهش میزان کلروفیل کل در نتیجه کاهش مقدار هر دو کلروفیل a و b در انگور گزارش شده است (Sofo *et al*., 2004).

مقایسه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ارقام مختلف نشان داده است که مقاومت به خشکی همبستگی بالایی با سیستم آنتی-اکسیدانی کارآمد دارد (Azooz, 2009). محققین ثبات غشا سلولی تحت شرایط تنش رطوبتی را به عنوان یک جز اصلی تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های مقاوم مطرح کرده اند که این میزان خسارت وارده به غشاهای سلولی توسط خشکی از طریق اندازه‌گیری نشت سلولی قابل ارزیابی است (Spaeth *et al*.,1984).

یکی از تاثیرات تنش کم آبی، مشابه سایر تنش‌های محیطی، ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو است که توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن صورت می‌گیرد (Mittler *et al*., 2004). گیاهان برای مقابله با این خسارت سلولی، از سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای استفاده می‌کنند که آنزیم‌هایی مثل کاتالاز و پراکسیداز از جمله آن‌ها هستند. این آنزیم‌ها در مقابله با تنش اکسیداتیو نقش کلیدی بر عهده دارند (Baby *et al*., 2011).

کاتالاز یک آنزیم محتوی هم است که تبدیل دو مولکول پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. کاتالاز بالاترین و سریع ترین پتانسیل از بین بردن پراکسید هیدروژن را در بین آنزیم-ها دارا است (Mhamdi *et al*., 2010).

کشت دیم انگور در برخی از استان‌های کشور رایج است و در این مناطق بوته‌های انگور در بخشی از رشد سالیانه خود یعنی تابستان که تبخیر و تعرق زیاد است، شدیدا تحت تاثیر تنش خشکی و کمبود آب قرار می‌گیرد و با مشکلاتی از جمله کوتاه شدن دوره رشد، کاهش گل انگیزی و پیری فیزیولوژیک مواجه می‌شوند که در نهایت می‌تواند به کاهش عملکرد و از بین رفتن بوته‌ها منجر گردد (Ghaderi *et al*., 2009). با وجود خشکسالی‌های اخیر و شرایط تغییر در اقلیم مناطق به نظر می‌رسد یکی از راه‌های موثر برای مقابله با اثرات ناشی از کمبود آب استفاده از روش‌های به‌باغی مانند استفاده از رقم‌های بومی متحمل به خشکی باشد (Bianchi *et al*., 2018). لذا اصلاح و انتخاب رقم‌های متحمل‌تر به تنش خشکی با وجود پتانسیل بالای تنوع رقم‌ها در مناطق ایران باید مورد توجه قرار گیرد. در این زمینه گذشته مطالعاتی نیز صورت گرفته است که از آن جمله می‌توان به معرفی رقم‌های چفته و خلیلی (Rasoli *et al*., 2009 ; Bahrani *et al*., 2020;Asadi *et al*.,2017)، رقم‌های انگور سیاه قزوین و ملایی (Rasoli *et al*., 2009)، رقم خوشناو (Azizi *et al*., 2009)، رقم بی‌دانه سفید (Moradi *et al*., 2018)، رقم یاقوتی (Aran *et al*., 2017)، رشه، سرخک قوچان و سیاه زرقان و قلاتی شیراز (Haddadinejad *et al*., 2013) اشاره کرد.

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی تحمل خشکی ۱۸ رقم انگور و معرفی ارقام متحمل به خشکی و بررسی روابط موجود بین برخی از صفات فیزیولوژیکی (محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، میزان نسبی کلروفیل، کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید) و بیوشیمیایی (پرولین، قندهای محلول، آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز) با تحمل خشکی در انگور بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد با مختصات ۳۷ درجه و ۲۷ دقیقه عرض شمالی و ۵۷ درجه و ۱۹ دقیقه طول شرقی در سال ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۹ انجام گرفت. قلمه‌های انگور از ۱۸ رقم غالب منطقه شامل کلاهداری، کج انگور، فخری، سفید بریان، دیوانه، صاحبی، لعل، سیاه شیره، شیرگی، گرمه، خلیلی، کج انگور سنجری، کشمشی، قره قات، مسکه، عسگری، فلیم سیدلیس و بیدانه سفید جهت ریشه‌دار شدن به گلدان‌های پلاستیکی

1- Relative water content (RWC)

با قطر دهانه ۳۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر منتقل شدند. بستر مورد استفاده حاوی مخلوطی از ماسه بادی، خاک برگ و خاک باغچه به نسبت مساوی بودند. تا قبل از شروع آزمایش و همچنین پس از اتمام آزمایش تمامی گلدان‌ها بر اساس ظرفیت زراعی آبیاری می‌شدند.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در زمان رشد رویشی گیاه انگور انجام شد. فاکتور اول سطوح آبیاری شامل قطع آبیاری (تنش خشکی ۱۵ روزه) و کنترل (آبیاری در حد ظرفیت مزرعه) و فاکتور دوم نوع رقم (۱۸ رقم) بود.

برای اعمال تنش از روش قطع آبیاری تا زمان مشاهده علائم پژمردگی برگ استفاده شد (Siemens *et al*., 2003)، که این زمان تحمل بی‌آبی با توجه به تجربیات گذشته حدود ۲ هفته بود. در طول آزمایش دمای حداقل گلخانه ۱۸/۵ درجه سانتی‌گراد و دمای حداکثر ۳۴ درجه سانتی‌گراد بود و از تابش نور طبیعی استفاده گردید (۱۵/۵ ساعت روشنایی و ۸/۵ ساعت تاریکی)، در این مدت از هیچ نوع تغذیه کودی استفاده نشد. خصوصیات خاک محل آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

محتوای آب نسبی: به منظور تعیین محتوای آب نسبی سه برگ جوان و توسعه یافته از بالای پوشش گیاهی برداشت شد. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و وزن تر آن‌ها تعیین گردید. سپس نمونه‌ها ۱۸-۱۶ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی در داخل آب مقطر قرار داده شدند. پس از این مدت قطعات به سرعت و با دقت وزن شدند. آنگاه قطعه‌های برگی به مدت ۴۸ ساعت در آون (مدل UNpa110 کمپانی MEMMERT آلمان) ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار محتوای آب نسبی از رابطه زیر به دست آمد (Barrsu *et al*., 1962).

$$RWC\% = [\frac{W_f - W_d}{W_t - W_d}] \times 100$$

W_f: وزن تازه برگ، W_t: وزن تورژسانس برگ و W_d: وزن خشک برگ است.

نشت الکترولیت: شاخص پایداری غشا از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت برگ ارزیابی شد. برای این منظور۱۵ عدد دیسک برگی به لوله‌هایی با حجم ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال یافت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار داده شدند. هدایت الکتریکی آب مقطر همراه نمونه‌ها (EC1) توسط دستگاه هدایت‌سنج (مدل GLM 020 کمپانی GREISINGER) اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش در حمام آب جوش به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و پس از سرد شدن EC2 آن‌ها مجددا اندازه‌گیری شد و در نهایت نشت الکترولیتی با معادله زیر محاسبه گردید (Sairam *et al*., 2002).

$$EL\% = [EC1/EC2]*100$$

EL: نشت الکترولیتی، EC1 و EC2 هدایت الکتریکی به ترتیب قبل و بعد از حمام آب جوش

کلروفیل a، b و کارتنوئید: برای اندازه‌گیری کلروفیل و کارتنوئید از روش آرنون (۱۹۴۹) استفاده شد (Arnon, 1949). برای سنجش غلظت کلروفیل‌های a و b و همچنین کارتنوئید ۰/۵ گرم نمونه برگی در ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ (مدل ROTOFIX 32A کمپانی HETTICH آلمان) با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ جهت اندازه‌گیری جذب نوری کلروفیل a، b و کارتنوئید به ترتیب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UD-2960 کمپانی LABOMED) انجام گرفت. سپس مقدار کلروفیل‌های a، b و همچنین کارتنوئید از رابطه‌های زیر محاسبه شدند:

$$Chlorophyll\ a = (19.3 * A663 - 0.86 * A645)V/100W$$
$$Chorophyll\ b = (19.3 * A645 - 3.6 * A663)V/100W$$
$$Carotenoides = 100(A470) - 3.27(mg\ chl.a) - 104(mg\ chl.b)/227$$

V= حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

شاخص سبزینگی برگ: مقدار نسبی سبزینگی یا کلروفیل برگ توسعه یافته به صورت غیر مستقیم و بدون ایجاد تخریب در برگ‌ها، با استفاده از دستگاه SPAD یا کلروفیل‌متر (مدل MINOLTA-502 ساخت کشور ژاپن) بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح تعیین شد. برای این منظور از هر کرت ۳۰ برگ در موقعیت مشابه (برگ‌های بالای کانوپی) در روی بوته‌های مختلف انتخاب و میزان کلروفیل آن‌ها با استفاده از دستگاه فوق تعیین گردید و در نهایت میانگین این اعداد به عنوان عدد کلروفیل‌متر مربوط به آن کرت و آن مرحله اندازه‌گیری ثبت گردید (Pettygrove *et al*., 1994).

تهیه عصاره آنزیمی: ۰/۵ گرم بافت تازه برگ را در ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH (pH متر قلمی مدل ۶۰۱۱/۶۰۱۱A کمپانی EZDO تایوان) برابر ۷/۵ که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (pvp) ۱ درصد و EDTA ۱ میلی‌مولار بود، ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام شد. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ (مدل Centrifuge 5415R کمپانی EPPENDORF) شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد (Gapinska *et al*., 2008).

اندازه‌گیری گلوتاتیون پراکسیداز (GPX): فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. در این روش از ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار و ۷ =pH)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UD-2960 کمپانی LABOMED) به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد (Plewa *et al.*, 1991). میزان فعالیت این آنزیم بر اساس کاتال در میلی‌لیتر گزارش شد.

اندازه‌گیری کاتالاز (CAT): سنجش فعالیت کاتالاز به روش دهیندسا اندازه‌گیری شد (Dhindsa *et al.*,1981). مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با افزودن پراکسید هیدروژن به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب پراکسید هیدروژن در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UD-2960 کمپانی LABOMED) اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت این آنزیم بر اساس کاتال در میلی‌لیتر گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها پس از جمع‌آوری به وسیله نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین به وسیله آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول ۱- مشخصات خاک

Table 1- Characteristics of soil

بافت خاک Soil texture	pH	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	نیتروژن کل N_{total} (%)	فسفر P ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم K ($mg.kg^{-1}$)	آهن Fe ($mg.kg^{-1}$)
لومی شنی Sandy Loam	7.8	3.1	0.05	8.4	380	4

نتایج و بحث

محتوی آب نسبی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر محتوای آب نسبی معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های میزان محتوای آب نسبی نشان داد ۱۵ روز عدم آبیاری (۶۱/۹۵ درصد)، محتوای آب برگ به طور معنی‌داری در مقایسه با آبیاری در حد ظرفیت زراعی (۷۷/۰۲ درصد) کاهش یافت (جدول ۲). محتوای نسبی آب در ارقام بیدانه سفید (۷۷/۸۱ درصد)، فلیم سیدلس (۷۷/۴۵ درصد) و فخری (۷۶/۷۶ درصد) بطور معنی‌داری از سایر ارقام مورد آزمایش بیشتر بود (جدول ۳). ارقام دارای محتوای آب نسبی بالاتر قادر هستند در شرایط تنش از صدمات کمتری ناشی از پسابیدگی و کاهش محتوای آب برخوردار گردند، به نظر می‌رسد می‌توان آن‌ها را جزء ارقام مقاوم محسوب نمود. اثر متقابل تنش خشکی در رقم روی محتوای آب نسبی در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که واکنش ارقام مختلف انگور به کاهش محتوای آب نسبی در تنش خشکی، متفاوت است، این تفاوت می تواند به توانایی ارقام در جذب آب از خاک یا توانایی بستن روزنه‌ها، تعرق کم‌تر و افزایش غلظت شیره‌سلولی در شرایط تنش خشکی مربوط گردد که قبلا توسط برخی پژوهشگران گزارش شده‌است(Nayyar Ghorbani *et al.*, 2006; *et al.*, 2006).

عکس‌العمل ارقام انگور نسبت به تنش خشکی متفاوت می‌باشد و به طور کلی کمبود آب موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ و کلروفیل می‌گردد (Ghaderi *et al.*, 2011).

هر عامل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان که در حفظ آب گیاه نقش داشته باشد، می‌تواند یکی از عوامل موثر در معرفی رقم متحمل باشد. بسیاری از محققان در رابطه با انواع گیاهان گزارش کرده‌اند که ارقام مقاوم دارای آب نسبی بالاتری نسبت به ارقام حساس بوده‌اند (Abdalla *et al.*, 2007 Sanchez *et al.*, 2010;). بر این اساس به‌نظر می‌رسد ارقام بیدانه سفید، فلیم سیدلس و فخری تحمل بیشتری نسبت به خشکی داشته باشند.

نشت الکترولیت: نتایج حاصل تجزیه واریانس نشان داد که از نظر میزان خسارت به غشای سلولی بر اساس شاخص نشت الکترولیت تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین ارقام و سطوح تنش خشکی وجود داشت. همچنین اثر متقابل رقم و تنش در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). میزان نشت الکترولیت در تنش خشکی ۱۵ روزه (۶۲/۲۹) نسبت به شرایط عدم تنش (۴۲/۲۹) افزایش یافت. در بین ارقام رقم بیدانه سفید (۳۱/۵) کمترین نشت الکترولیت را داشت و پس از آن ارقام مسکه (۲۴/۰۹)، گرمه (۳۷/۳)،

فلیم سیدلس (۳۷/۳) و خلیلی (۳۷/۶) میزان نشت الکترولیت کمتری داشتند و ارقام قره قات، صاحبی و سیاه بیشترین میزان نشت الکترولیت را داشتند (جدول ۳). در تیمار خشکی ۱۵ روزه کمترین میزان نشت الکترولیت مربوط به رقم بیدانه سفید (۳۵/۶۶) بود. و در شرایط بدون تنش خشکی، کمترین میزان نشت الکترولیت مربوط به رقم مسکه (۲۷/۰۶) بود (شکل ۱- الف). قاوم به تنش خشکی، به غشای سلولی آسیب وارد شده، ولی چون مقدار آسیب تقریبا در آستانه قرار دارد ممکن است با ایجاد شرایط مناسب و در اختیار قرار گرفتن مجدد آب برای گیاه، سلول دوباره به حالت اول بازگشته و سیالیت غشاء مجدد به دست آید. تحت تنش خشکی، غشاء سلولی پایداری خود را از دست داده و در صورت قرار گرفتن برگ در یک محیط آبی مواد محلول از سلول‌های آن به بیرون تراوش می‌کند، لذا پایداری غشا به وسیله بررسی تراوش یون‌ها از ارزیابی می‌شود (Sairam *et al*., 2002). نتایج نشان داد تنش خشکی باعث ایجاد اختلال در فعالیت بیولوژیک غشاء سلولی، کاهش سیالیت آن و غیر فعال‌سازی یا کاهش سرعت پمپ شدن یون‌های غشایی می‌شود، بنابراین بر میزان نشت یون‌ها نیز افزوده گردید. تنش خشکی یک سری تغییرات را در فسفولیپیدهای غشا ایجاد می‌کند و اسیدهای چرب غیراشباع افزایش می‌یابند. در تنش‌های شدید بعضی از قسمت‌های فسفولیپیدهای دولایه‌ای غشاء حالت شش وجهی پیدا کرده و ساختار غشا به ساختار منفذدار تبدیل می‌شود و نشت مواد رخ می‌دهد. به طور کلی تنش خشکی باعث افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و در نهایت کاهش شاخص پایداری غشاء سلول در گیاهان مختلف می‌شود (Mirjalili, 2004).

بنابراین به‌نظر می‌رسد رقم بیدانه سفید را می‌توان به عنوان یک رقم متحمل به خشکی معرفی نمود، زیرا ثبات غشاء سلولی و نشت الکترولیت کمتر تحت شرایط تنش رطوبتی یک جزء اصلی تحمل به خشکی در ارقام متحمل محسوب می‌شود (Kocheva *et al*., 2003).

شاخص کلروفیل (SPAD): اثر تنش خشکی بر شاخص کلروفبل برگ در بین ارقام و سطوح تنش خشکی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد میزان نسبی کلروفیل در تیمار عدم تنش (۲۶/۷۱) بیشتر از تیمار خشکی ۱۵ روزه (۱۶/۸۵) بود. در بین ارقام بیشترین میزان نسبی کلروفیل مربوط به رقم بیدانه سفید (۲۸/۶۲) و پس از آن رقم دیوانه (۲۵/۶۹) می باشد. و کمترین میزان نسبی کلروفیل در رقم قره قات (۱۴/۹۲) مشاهده شد (جدول ۳).

به‌نظر می‌رسد کاهش میزان نسبی کلروفیل در شرایط تنش خشکی علاوه بر کاهش در میزان سنتز ناشی از تجزیه کلروفیل در اثر افزایش میزان کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی باشد (Ahmadi, 2005) بر اساس نظر اسکاتزوفاگمید کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن در سلول است. این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌گردد (Schutz *et al*., 2001). در اثر کاهش غلظت کلروفیل از شدت و میزان رنگ سبز برگ‌ها نیز کاسته می‌شود و پیری زودرس در گیاه روی می‌دهد. کاهش سبزینگی برگ در شرایط تنش طولانی مدت ممکن است تا حدودی به خاطر کاهش جریان نیتروژن به بافت‌ها و تغییر فعالیت آنزیم‌هایی مانند نیترات ردوکتاز باشد. چون نیتروژن بخشی از مولکول کلروفیل است، ممکن است کمبود آن در گیاهان تشکیل کلروفیل را با کندی مواجه سازد (Rabiei, 2003).

بر این اساس به‌نظر می‌رسد رقم بیدانه سفید با داشتن بالاترین میزان شاخص کلروفیل، تحمل بیشتری به تنش خشکی داشته باشد.

کلروفیل a ، b و کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد، اثر رقم و تنش خشکی تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل a و b و کارتنوئید داشت (جدول ۲). به طوری‌که باعث کاهش کلروفیل a، b و کارتنوئید از ۶/۸۵، ۲ و ۴/۰۹ میلی‌گرم در گرم بافت تازه برگ در شرایط عدم تنش به ۳/۴۵، ۱/۱۲ و ۲/۸۶ میلی‌گرم در گرم بافت تازه برگ در تنش خشکی گردید (جدول ۳). بیشترین میزان کلروفیل a در بین ارقام مربوط به ارقام گرمه (۶/۶۴ میلی‌گرم بر گرم) و بیدانه سفید (۶/۵۶ میلی‌گرم بر گرم) می‌باشد و کمترین میزان کلروفیل a مربوط به رقم سیاه (۲/۹۶ میلی‌گرم بر گرم) می‌باشد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به ارقام گرمه (۲/۱۲ میلی‌گرم بر گرم)، بیدانه سفید (۲/۰۵ میلی‌گرم بر گرم) و فخری (۲/۰۳ میلی‌گرم بر گرم) می‌باشد. کمترین مقدار کلروفیل b به رقم سیاه (۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم) اختصاص داشت. در بین ارقام بیشترین میزان کاتنوئید مربوط به ارقام بیدانه سفید (۴/۸۱ میلی‌گرم بر گرم) و مسکه (۴/۷۷ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین آن مربوط به رقم سیاه (۱/۹۵ میلی‌گرم بر گرم) می‌باشد (جدول ۳).

اثر متقابل رقم و تنش خشکی بر میزان کلروفیل a و کارتنوئید در سطح یک درصد و در کلروفیل b در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. حداکثر کلروفیل a، b و کارتنوئید در تنش خشکی ۱۵ روزه متعلق به ارقام بیدانه سفید، مسکه و فخری بود (جدول ۳). در تیمار تنش خشکی ۱۵ روزه، رقم بیدانه سفید دارای بیشترین (۵/۰۴ میلی‌گرم بر گرم) و رقم کج انگور دارای کمترین میزان کلروفیل a (۱/۵۲) بود (شکل ۱- ب). کاهش میزان کلروفیل در سایر بررسی‌ها نیز گزارش شده‌است (۶،۵۳ میلی‌گرم بر گرم). همچنین بیشترین میزان کارتنوئید (۴/۳۷) مربوط به رقم بیدانه سفید در تیمار تنش خشکی بود و در تیمار بدون تنش، رقم‌های مسکه و فخری (به ترتیب ۵/۵۷ و ۵/۵۴ میلی‌گرم بر گرم) دارای بیشترین مقدار کارتنوئید بود. و رقم سیاه در هر دو تیمار آبیاری کمترین میزان کارتنوئید را داشت (شکل ۱- پ).

فینگر و همکاران با اعمال تنش بر میوه موز دریافتند که تنش، با افزایش تنفس و تولید اتیلن سبب فعالسازی آنزیم‌های مسیر کاتابولیسم کلروفیل (کلروفیلاز، پراکسیداز و لیپوکسیژناز) و متعاقب آن تجزیه کلروفیل و زرد شدن میوه موز می‌شود. از عوامل دیگر کاهش محتوای کلروفیل در هنگام مواجه گیاهان با تنش خشکی، تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و متعاقب آن پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب کلروفیل است (Finger *et al*., 1995). دیگر دلیل کاهش کلروفیل، افزایش استفاده از نیتروژن برای سنتز پرولین می‌باشد (Dhindsa *et al*., 1981). کاهش میزان کلروفیل‌ها در تنش خشکی ممکن است علامت تنش اکسیداتیو و نتیجه اکسیداسیون نوری رنگریزه‌های فتوسنتزی نیز باشد (Anjum *et al*., 2011a).

نتایج لاولور و کورینک (Lawlor *et al*., 2002) مشخص نمود که کارتنوئیدها به عنوان رنگریزه کمکی موثرند و نقش مهم دیگری چون محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل را نیز برعهده دارند.

بنابراین احتمال دارد ارقام بیدانه سفید، گرمه، مسکه و لعل جزء ارقام متحمل به خشکی باشند.

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز: جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر رقم و تنش و اثر متقابل رقم و تنش بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تنش خشکی ۱۵ روزه، میزان آنزیم پراکسیداز به طور معنی‌داری نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت، به طوری که فعالیت آنزیم پراکسیداز در تنش خشکی ۱۵ روزه (۰/۰۵۶ کاتال در میلی‌لیتر) و در شرایط بدون تنش (۰/۰۴۶ کاتال در میلی‌لیتر) بود. این آنزیم در شرایط تنش افزایش می‌یابد (Plewa *et al*., 1991). در بین ارقام، بیشترین مقدار آنزیم پراکسیداز مربوط به رقم گرمه با میانگین (۰/۰۶۱۸ کاتال در میلی‌لیتر) و کمترین مقدار در بین ارقام سیاه (۰/۰۴۶۳ کاتال در میلی‌لیتر) و کشمشی (۰/۰۴۶۶ کاتال در میلی‌لیتر) اختصاص داشت (جدول ۳). با توجه به اثر برهمکنش رقم در تنش (شکل ۱- ت) رقم گرمه در هر دو شرایط تنش (بدون تنش و تنش خشکی) دارای بیشترین مقدار آنزیم پراکسیداز بود. همچنین در شرایط تنش خشکی میزان آنزیم پراکسیداز در همه ارقام افزایش یافت.

آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز به عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های مهار کننده پراکسید هیدروژن شناخته شده‌اند (Turkan, 2011) که در مرحله جوانه‌زنی خسارت ناشی از انواع اکسیژن فعال را خنثی می‌کنند (Bradford *et al*., 2007). آسکوربات به عنوان دهنده الکترون برای واکنش پراکسیداز، شناسایی شده‌است (Anjum *et al*., 2010) و تولید آسکوربات در داخل کلروپلاست، مکانیسم رایجی جهت تنظیم انتقال الکترون است (Turkan, 2011).

گیاهان غالبا برای مقابله با اثرات تنش اکسیداتیو، فعالیت آنزیم-های آنتی اکسیدانی خود را افزایش می‌دهند. میزان افزایش فعالیت این آنزیم‌ها با افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی همبستگی دارد (Habibi *et al*., 2011).

تنش خشکی باعث افزایش در فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در ارقام حساس و مقاوم به خشکی می‌شود، ولی رقم متحمل به تنش، به طور چشمگیری نسبت به رقم حساس از فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بالاتری برخوردار است (Wang *et al*., 2009). به نظر می‌رسد رقم گرمه با بالاترین میزان آنزیم پراکسیداز جزء متحمل‌ترین ارقام است.

آنزیم کاتالاز: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم و تنش روی فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با اعمال تنش خشکی ۱۵ روزه فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۹۲کاتال در میلی‌لیتر) نسبت به شرایط بدون تنش (۰/۸۱ کاتال در میلی‌لیتر) افزایش یافت (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام گرمه (۰/۹۵۹کاتال در میلی‌لیتر) و مسکه (۰/۹۵۶ کاتال در میلی‌لیتر) مشاهده‌شد. این در حالی بود که ارقام گرمه و مسکه جزء ارقام متحمل به خشکی بودند. و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم سیاه (۰/۸۲۸ کاتال در میلی‌لیتر) مشاهده شد (جدول ۳)، و این در حالی است که این رقم جزء ارقام حساس به خشکی بود. می‌توان احتمال داد که فعالیت بیشتر آنزیم کاتالاز در ارقام گرمه و مسکه باعث از بین رفتن و جلوگیری از آسیب‌های پراکسیدهیدروژن می‌شود.

برهمکنش اثر رقم در تنش در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. با اعمال تنش ۱۵ روزه، فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام گرمه و مسکه (به ترتیب ۱/۰۴ و ۱/۰۳) افزایش یافت (شکل ۱- ث).

کاتالاز آنزیمی است که در اندامک پراکسی‌زوم فعالیت کرده و پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Mittler, 2002). احتمالا در شرایط بدون تنش به دلیل عدم تولید بیش از حد انواع اکسیژن فعال، تولید پراکسید هیدروژن ناشی از یون سوپراکسیدکاهش یافته و در نتیجه میزان آنزیم کاتالاز کاهش می‌یابد. آسکوربات نیز به دلیل خنثی‌سازی و از بین بردن رادیکال سوپر اکسید در پاکسازی این رادیکال مخرب نقش داشته و در نتیجه سبب تولید پراکسیدهیدروژن و در پی آن کاهش میزان آنزیم کاتالاز شده است (Turkan, 2011). تولید گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی طی تنش باعث پراکسیداسیون لیپیدها، دناتوره شدن پروتئین‌ها و اکسیداسیون DNA می‌شود و گیاه برای مقابله با این تغییرات، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز را برای خنثی‌سازی فعالیت این رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد (Dat *et al*., 2000).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برخی ارقام انگور

Table 2- ANOVA for the effect of drought stress on physiological and biochemical characteristics of some grapevine cultivars

منابع تغییرات Source of variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square محتوای آب نسبی Relative water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنویید Carotenoid	پراکسیداز peroxidase	کاتالاز Catalase
رقم Cultivar	17	277.23**	1230.44**	59.91**	6.01**	0.56**	2.96**	0.000096**	0.0015**
تنش Stress	1	6130.02**	10796**	2626.11**	311.30**	20.78**	42.32**	0.00238**	0.280**
رقم×تنش Cultivar× stress	17	66.75*	121.15**	14.53*	2.88**	0.31*	0.89**	0.000024**	0.002**
خطای آزمایش Error	72	34.68	63.04	8.04	0.73	0.16	0.36	0.00008	0.001
ضریب تغییرات C.V (%)		8.47	15.18	13.02	16.59	25.77	17.47	5.74	4.37

*و**: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

* and **: significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

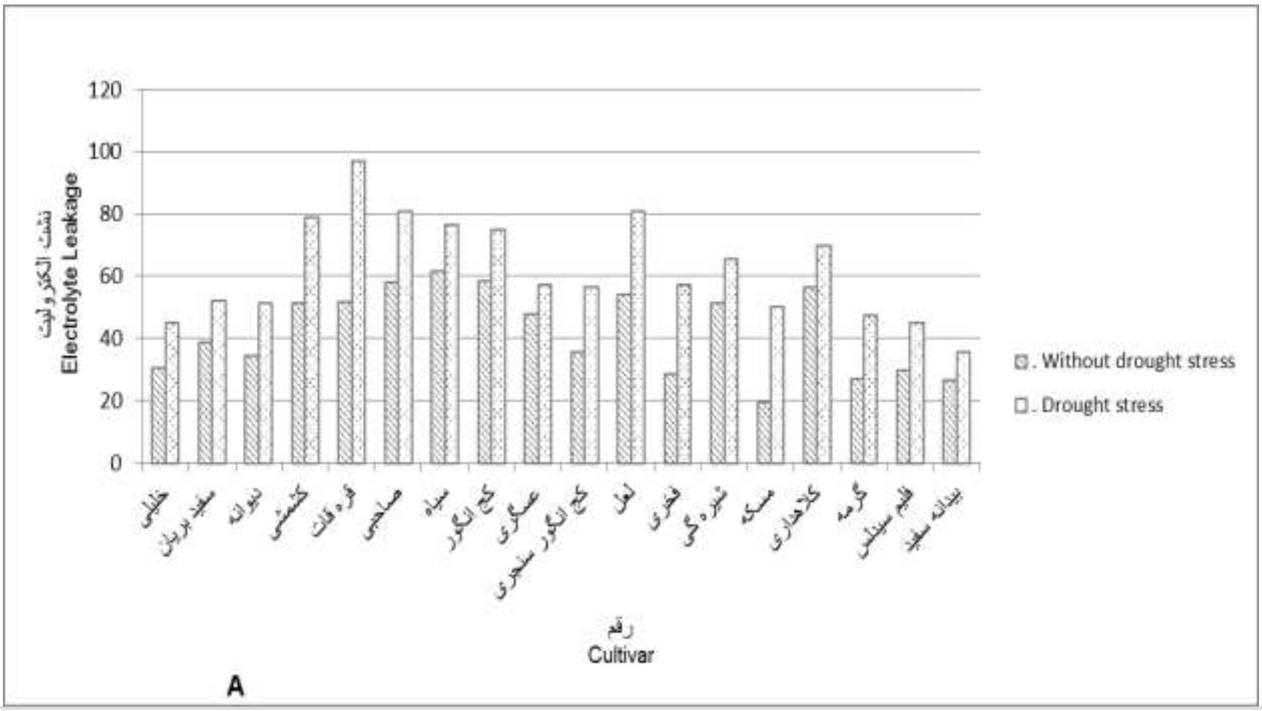
جدول ۳- اثرتنش خشکی و رقم بر صفات مورد بررسی برگ انگور

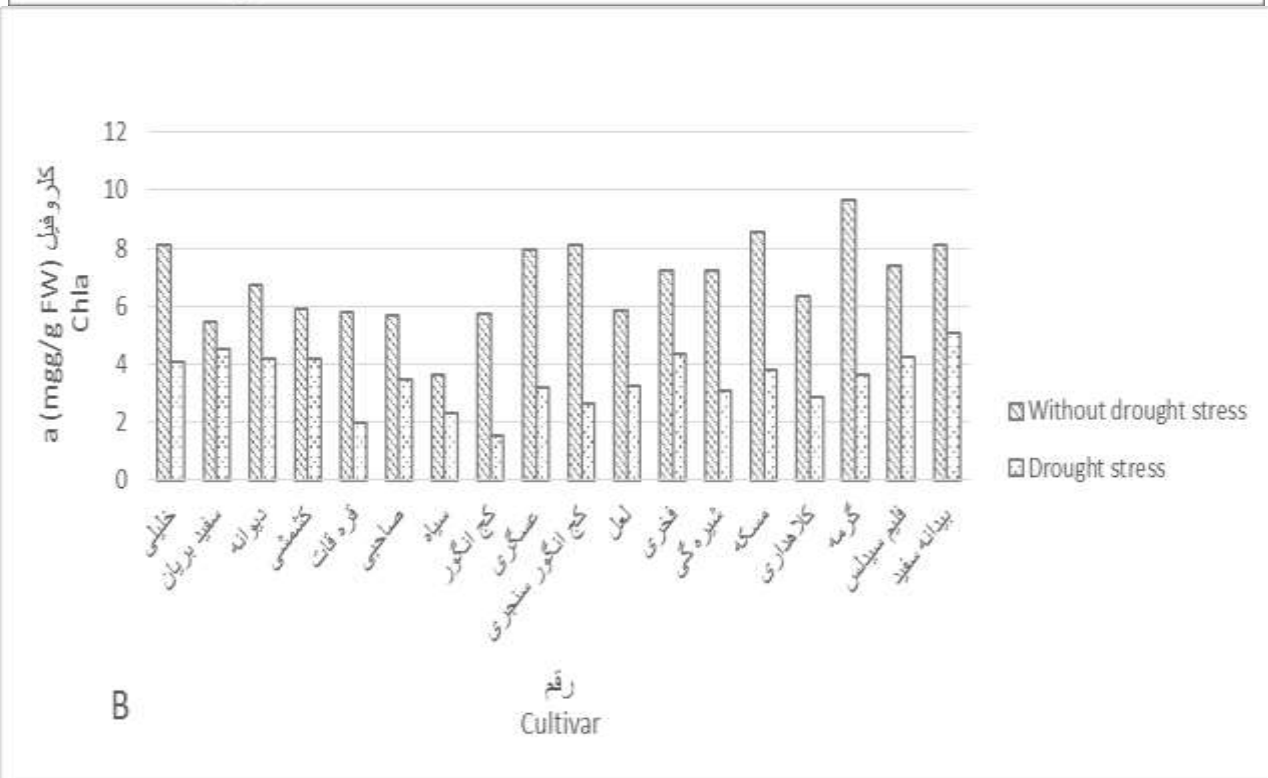
Table 3- The effect of drought stress and cultivar on leaf traits of grapevine

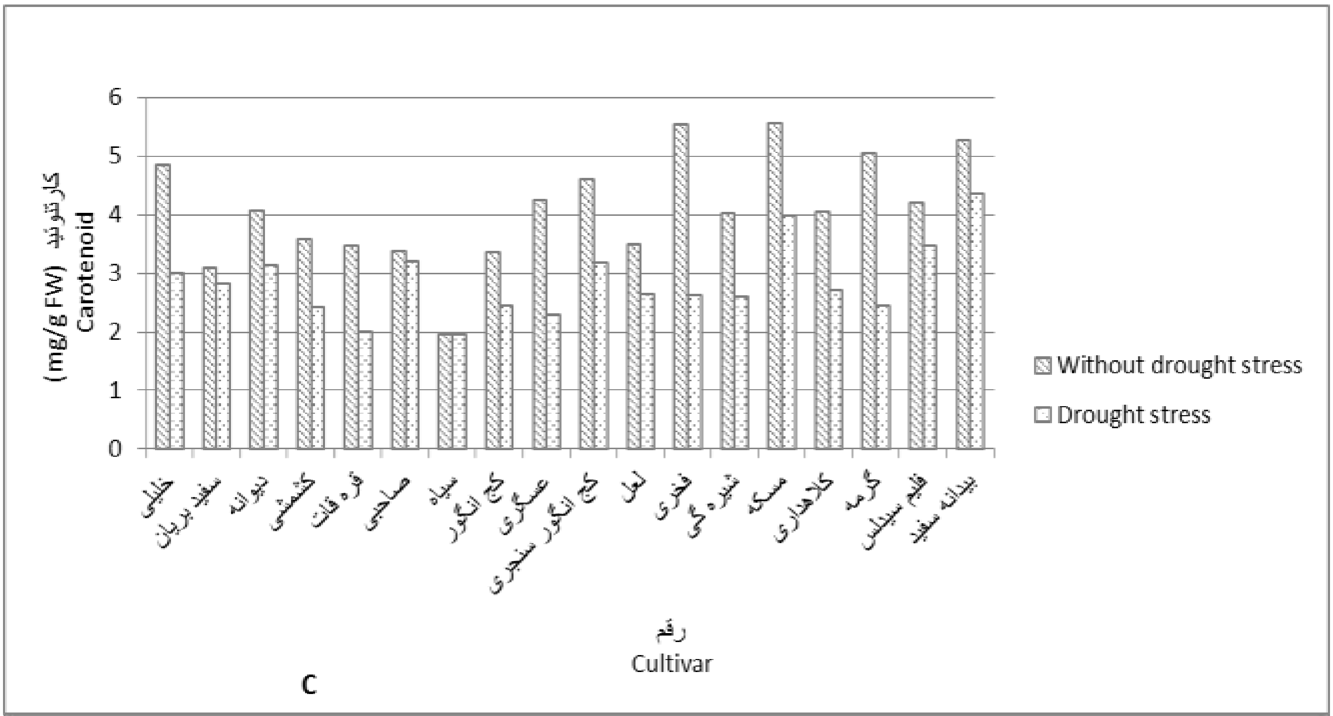
تیمار Treatment	کاتالاز Catalase ($cat.ml^{-1}$)	پراکسیداز Peroxidas ($cat.ml^{-1}$)	کارتنوئید Carotenoid ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل a Chlorophyll a ($mg.g^{-1}$ FW)	شاخص کلروفیل (SPAD)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	محتوای نسبی آب برگ Leaf RWC (%)
آبیاری Irrigation								
بدون تنش خشکی Without drought stress	0.81B	0.046B	4.09A	2A	6.85A	26.71A	42.29B	77.02A
تنش خشکی Drought stress	0.92A	0.056A	2.84B	1.12B	3.45B	16.85B	62.29A	61.95B
رقم Cultivar								
خلیلی Khalili	0.831gh	0.0506e	3.92bc	1.85b	6.06bc	21.96fg	37.60i	74.42b
سفید بریان Sefid Beryan	0.869f	0.0503ef	2.96hi	1.43defg	4.98i	23.16de	45.38gh	58.95ef
دیوانه Divaneh	0.832gh	0.0551b	3.59de	1.58cd	5.45efg	25.69b	42.86h	73.37b
کشمشی Keshmeshi	0.845g	0.0466i	3h	1.28gh	5.05hi	21.21gh	65.09cd	61.74d
قره قات Ghareghat	0.782j	0.0481h	2.73i	1.2h	3.85k	14.92l	74.38a	60.22de
صاحبی Sahebi	0.813i	0.0490gh	3.28fg	1.49def	4.56j	20.30hi	69.30b	70.13c
سیاه Siyah	0.828h	0.0463i	1.95j	0.92i	2.96l	19.21ij	69.08b	60.25de
کج انگور KajAngoor	0.797j	0.0480h	2.9hi	1.34fgh	3.63k	16.87k	66.53bc	57.67f
عسگری Asgari	0.878ef	0.0533d	3.27fg	1.66c	5.56def	21.6g	52.53f	73.48b
کج انگور سنجری SanjariKajajAngoor	0.889df	0.0548bc	3.88bc	1.67c	5.37fgh	22.91ef	46g	73.70b
لعل La'l	0.885e	0.0493fg	3.06gh	1.41efg	4.54j	21.13gh	67.28bc	69.56c
فخری Fakhri	0.913bc	0.0538cd	4.07b	2.03a	5.78cde	21.63g	42.88h	76.76a
شیره گی Shiregi	0.901de	0.0488gh	3.31f	1.53cde	5.15ghi	19.18j	58.33e	67.86c
مسکه Meskeh	0.956a	0.0506e	4.77a	1.45def	6.16b	24.59bc	34.90i	73.83b
کلاهداری Kolahdari	0.867f	0.0483gh	3.38ef	1.54cde	4.6j	21.31gh	63.28d	69.25c
گرمه Garmeh	0.959a	0.0618a	3.74cd	2.12a	6.64a	24.05cd	37.30i	74.28b
فلیم سیدلس Flame seedless	0.887de	0.0555b	3.83cd	1.52cde	5.79cd	23.71cde	37.31i	77.45a
بیدانه سفید White seedless	0.913b	0.0550b	4.81a	2.05a	6.56a	28.62a	31.15j	77.81a

**در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند (حروف بزرگ برای اثر آبیاری و حروف کوچک برای اثر رقم)، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نمی باشد.

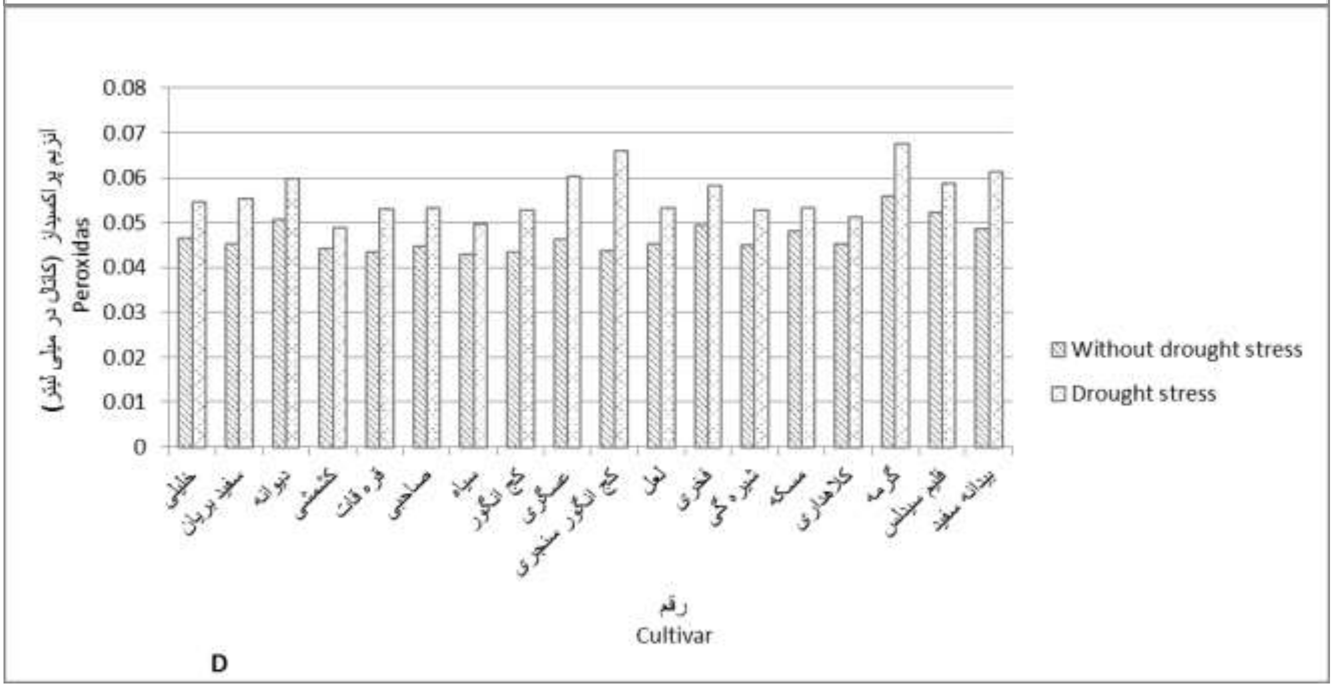
**: The difference between means with similar letter (capital letter for irrigation and small letters for cultivar effects)in each column is not significant at the 5% of probability level based on the LSD test.


120
100
80
60
40
20
0
نشت الکترولیت
Electrolyte Leakage
خلیلی
سفید بریان
دیوانه
کشمشی
صاحبی
سیاه
کج انگور
عسگری
کج انگور سنجری
لعل
فخری
شیره گی
مسکه
کلاهداری
گرمه
بیدانه سفید
. Without drought stress
. Drought stress
رقم
Cultivar
A

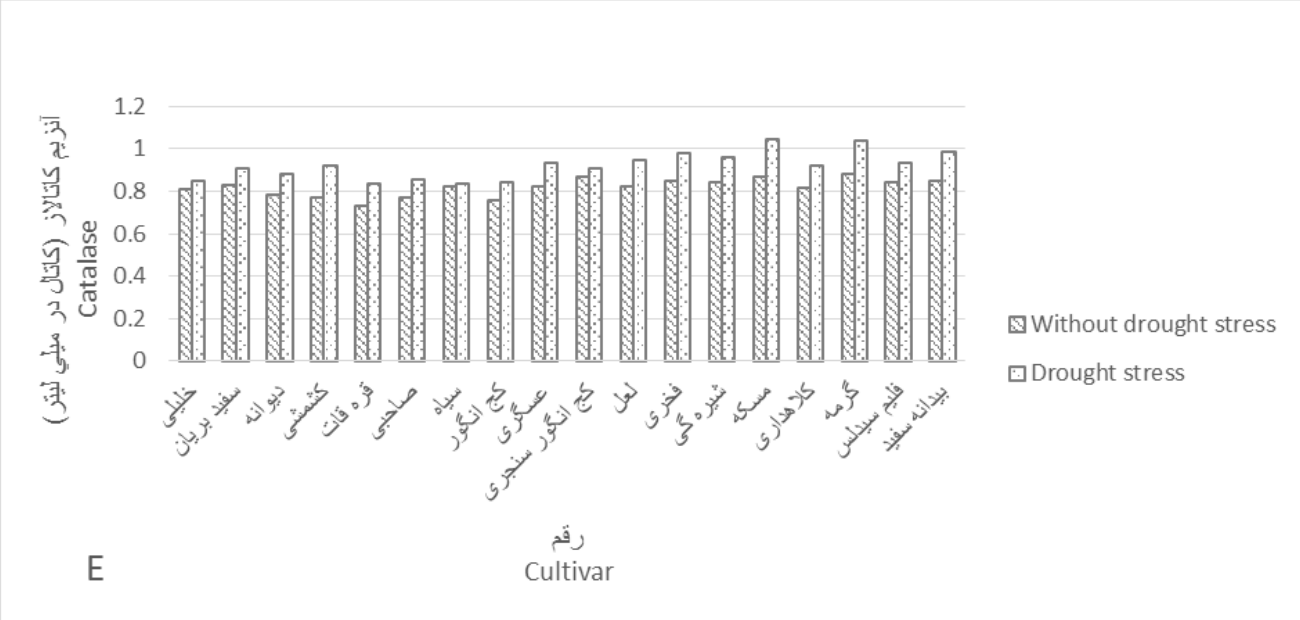

12
10
8
6
4
2
0
کلروفیل a (mgg/g FW)
Chla
خلیلی
سفید بریان
دیوانه
کشمشی
صاحبی
سیاه
کج انگور
عسگری
کج انگور سنجری
لعل
فخری
شیره گی
مسکه
کلاهداری
گرمه
بیدانه سفید
Without drought stress
Drought stress
رقم
Cultivar
B



کارتنوئید (mg/g FW)
Carotenoid
0
1
2
3
4
5
6
Without drought stress
Drought stress
خلیلی
سفید بریان
دیوانه
کشمشی
قره قات
صاحبی
سیاه
کج انگور
عسگری
کج انگور سنجری
لعل
فخری
شیره گی
مسکه
کلاهداری
گرمه
قلیم سپلس
بیدانه سفید
رقم
Cultivar
C



آنزیم پراکسیداز (کاتال در میلی لیتر)
Peroxidas
0
0.01
0.02
0.03
0.04
0.05
0.06
0.07
0.08
Without drought stress
Drought stress
خلیلی
سفید بریان
دیوانه
کشمشی
قره قات
صاحبی
سیاه
کج انگور
عسگری
کج انگور سنجری
لعل
فخری
شیره گی
مسکه
کلاهداری
گرمه
قلیم سپلس
بیدانه سفید
رقم
Cultivar
D



شکل ۱– اثر برهمکنش تنش خشکی بر الف) نشت الکترولیت، ب) کلروفیل a، پ) کارتنوئید، ت) پراکسیداز، ث) کاتالاز در ارقام انگور

Figure 1- Interaction effect of drought stress on A) Electrolyte leakage, B) Chlorophyll a, C) Carotenoid, D) Peroxidase, E) Catalase, of grapevine cultivars

افزایش آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش کم‌آبی در سایر گیاهان نیز گزارش شده است (Mafakheri *et al*., 2011). کاتالاز مولکول پراکسیدهیدروژن را به طور مستقیم حذف می‌کند و آن را به مولکول آب و اکسیژن تبدیل می‌کند. از این رو، این آنزیم به قدرت کاهندگی نیاز ندارد، پس سرعت فعالیت بالایی دارد ولی چون تمایل آن به مولکول پراکسیدهیدروژن پایین است، فقط غلظت‌های بالای پراکسیدهیدروژن را حذف می‌کند و در غلظت‌های پایین پراکسیدهیدروژن خوب عمل نمی‌کند (Wang *et al*., 2009).

نتیجه‌گیری

سازش بوته انگور به تنش خشکی نتیجه تغییر بسیاری از مکانیزم‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است که منجر به تغییراتی در میزان نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب برگ، سرعت فرآیند فتوسنتز، فعالیت‌های آنزیمی و ... می شود. بر اساس یافته‌های این تحقیق ۱۸ رقم انگور مورد مطالعه به سه گروه متحمل (بیدانه سفید، گرمه، مسکه، فلیم سیدلس، فخری، خلیلی و دیوانه)، نیمه مقاوم (کلاهداری، سفید بریان، صاحبی، لعل، شیرگی، کج انگور سنجری و عسگری) و حساس به خشکی (سیاه شیره، قره قات، کج انگور و کشمشی) تقسیم‌بندی شدند. ارقام متحمل انگور در شرایط تنش خشکی در برابر کاهش رطوبت نسبی و کاهش کلروفیل مقاومت کردند. به علاوه مشخص گردید که ارقام متحمل نشت الکترولیت کمتر و محتوای نسبی آب برگ، شاخص کلروفیل، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتری در قیاس با ارقام حساس به خشکی داشتند. طبق نتایج حاصل از این تحقیق، رقم بیدانه سفید در بین همه ارقام مورد مطالعه، با داشتن بالاترین میزان محتوای نسبی آب برگ، میزان نسبی کلروفیل، کارتنوئید و کمترین مقدار نشت الکترولیت، و رقم گرمه با داشتن بالاترین میزان کلروفیلa ، کلروفیلb و آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز جزء متحمل‌ترین ارقام معرفی شدند.

منابع

1. Abdalla M.M., and El-Khoshiban N.H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two Triticium aestivum cultivars. Journal of Applied Sciences Research 3(12): 2062-2074
2. Ahmadi A., and Ceiocemardeh A. 2005. Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and Proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. Iranian Journal Agriculture Science 35: 753-763.
3. Anjum N.A., Umar S., and Chan M.T. 2010. Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 462p. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9404-9.
4. Anjum S.A., Xie X.Y., Farooq M., Wang L.C., Xue L.L., Shahbaz M., and Salhab J. 2011a. Effect of exogenous methyl jasmonate on growth, gas exchange and chlorophyll contents of soybean subjected to drought. African Journal of Biotechnology 10: 9640–9646. https://doi.org/10.5897/AJB10.2641.
5. Aran M., Abedi B., Tehranifar A., and Parsa M. 2017. Investigation of the effect of drought stress on some morphological and physiological characteristics of three grape cultivars. Scientific Journal of Horticultural Sciences 31(2): 315-326. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.53495.
6. Arazmjo A., Heidari M., and Ghanbari A. 2010. The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iran. J. Med. Arom. Plants 25(4): 482-494. (In Persian). https://doi.org/10.22092/IJMAPR.2010.7131.
7. Arji A., Arzani K., and Ebrahimzadeh H.2004. Quantitative study of proline and soluble sugarin5varieties of olive under drought stress. Iranian Journal of Biology 16(4): 85-92. (In Persian)
8. Arnon D.T. 1949. Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology 24: 15-1. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1.
9. Asadi W., Rasouli M., Gholami M., and Maleki M. 2017. Study of some morphological and physiological traits of four varieties grapes (*Vitis vinifera* L.) under water stress. Iranian Journal of Horticultural Science 48(4): 977-990. (In Persian). https://doi.org/10.22059/IJHS.2017.237072.1279.
10. Azizi H., Jalilimarandi R., Hasani A., and Dolati bane H. 2009. Effect of drought stress on some morphological and physiological characters of three grapevine cultivar. In: Proceedings of 6th Iranian Horticultural Science Congress 12-15 July, University of Gilan, Rasht, Iran, pp 527.
11. Azooz M.M. 2009. Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two faba bean genotypes differing in salt tolerance. International Journal of Agriculture and Biology 11: 343-350. http://www.fspublishers.org.
12. Baby J., and Jini D. 2011. Development of salt stress tolerance plants by gene manipulation of antioxidant enzymes. Asian Journal of Agricultural Research 5: 17-27. https://doi.org/10.3923/ajar.2011.17.27.
13. Bahrani P., Ebadi A., Zamani Z., and Fatahimoghadam M. 2020. Influence of different drought levels on some morphological and physiological traits in order to select the most tolerant grape rootstock. Journal of Plant Production Research 27(1): 41-56. (In Persian)
14. Barrsu H.D., and Weatherley P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. Australian Journal of Biological Sciences 15: 413-428. https://doi.org/10.1071/BI9620413.
15. Bianchi D., Grossi D., Tincani T.G., Di Lorenzo G.S., Brancadoro L., and Ustioni L. 2018. Multi-parameter characterization of water stress tolerance in Vitis hybrids for new rootstock selection. Plant Physiology and Biochemistry 132: 333-340. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.018.
16. Bradford K.J., and Nonogaki H. 2007. Seed Development, Dormancy and Germination. Blackwell Publishing Ltd. 389P.
17. Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., Van Montagu M., Inze D., and Van Breusegem F. 2000. Dual action of active oxygen species during plant stress responses. Cellular Molecular of Life Science 57: 779-795. https://doi.org/10.1007/s000180050041.
18. Dhindsa R.S., Plumb-Dhinds D., and Thorpe T.A. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal Exp. Bot. 32: 93-101. https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93.
19. Finger F.L., Puschmann R., and Barros R.S. 1995. Effects of water loss on respiration, ethylene production and ripening of banana fruit. Revista Brasileira De Fisiologia Vegtal 7: 115-118.
20. Gapinska M., Skodowska M., and Gabara B. 2008. Effect of short and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. Acta Physiology Plant 30: 11-18. https://doi.org/10.1007/s11738-007-0072-z.
21. Ghaderi N., Siosemardeh A., and Shahoei S. 2006. The effect of water stress on some physiological characterstics in Rashe and Khoshnove grape cultivars. Acta Horticulturae 754: 317-322. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.754.41.
22. Ghaderi N., Talaei A., Ebadi A., and Lesani H. 2009. Effect of water stress on some Physiological characters of five grapevine cultivars and evaluation of genetic diversity of them in Kurdistan province. Ph.D. Thesis. Faculty of Horticulture. University of Tehran, Iran. (In Persian)

23. Ghaderi, N., Talaei, A. R., Ebadi, A. & Lesani, H. 2010. Study of some physiological characteristics in ‘Sahani’, ‘Bidane-sefid’ and ‘Farkhii’ grapes during drought stress and their subsequent recovery. PhD Studies Dissertation, University of Tehran, Department of Horticulture. (In Persian) DOR:20.1001.1.2008482.1389.41.2.9.5.
24. Ghaderi N., Talaie A.R., Ebadi A., and Lessani H. 2011. The Physiological response of three Iranian grape cultivars to progressive drought stress. Journal of Agricultural Science and Technology 13: 601-610. DOR:20.1001.1.16807073.2011.13.4.4.3.
25. Ghasemzadeh A. andJaafar H. Z. E. 2013. Interactive effect of salicylic acid on some physiological features and antioxidant enzymes activity in ginger (*Zingiber officinale Roscoe* L.). Molecules 18: 5965-5979. https://doi.org/10.3390/molecules18055965.
26. Ghorbani Javid M., Moradi F., Akbari Gh.A., and Allahdadi I. 2006. The role of some metabolites on the osmotic adjustment mechanism in annual cutleaf medic [*Medicago laciniata* (L.) Mill] under drought stress. Iranian Journal Crop Science 8(2): 90-105. (In Persian with English abstract). magiran.com/p636869.
27. Habibi G., and Hajiboland R. 2011. Comparison of water stress and UV radiation effects on the induction of CAM and antioxidative defense in the succulent *Rosularia elymaitica* (Crassulaceae). Acta Biology Cracov BotANY 53(1): 7-15. https://doi.org/10.2478/v10182-011-0020-5.
28. Haddadinejad. M., Ebadi. A., Fatahimoghadam. M.R., and Nejatian M.A. 2013. Primary morphological screening of 698 grape genotypes based on drought tolerance for base selection. Iranian Journal of Horticultural Sciences 44(2): 193-207. (In Persian) https://doi.org/10.22059/IJHS.2013.35052.
29. JaliliMarandi R. 2010. Environmental stress physiology and resistance mechanisms in plants garden (fruit trees, vegetables, ornamental plants and medicinal plants). PressSID, West Azarbaijan. Iran.
30. Kocheva K., and Georgive G. 2003. Evaluation of the reaction of two contrasting Barley (*Hordeum vulgare L.*) Cultivars in response to osmotic stress with PEG6000. Journal Plant Physiology 290-294.
31. Lawlor D.W., and Cornic G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant, Cell and Environment 25: 275–294. https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x.
32. Lum M.S., Hanafi M.M., Rafii Y.M., and Akmar A.S.N. 2014. Effect of Drought Stress on Growth, Proline and Antioxidant Enzyme Activities of Upland Rice. Journal of Animal & Plant Sciences 24(5): 1487-1493.
33. Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P.C., and Sohrabi Y. 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. Australian Journal of Crop Science 5(10): 1255-1260.
34. Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Breusegem F.V., and Noctor G. 2010. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. Journal of Experimental Botany 61: 4107-4320. https://doi.org/10.1093/jxb/erq282.
35. Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410. https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)02312-9.
36. Mirjalili A. 2004. Plants in a stressful environment. Nourbakhsh Publishing, p. 230.
37. Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., and Breusegem F.V. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science 9: 490-498. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009.
38. Moradi B., Ehteshamnia A., and Momiuvand H. 2018. Effect of drought stress on some morphological characteristics of two seedless white and seedless red grape cultivars. Sixth Scientific Research Congress on Development and Promotion of Agricultural Sciences and Natural Resources in Iran.
39. Nayyar H., and Gupta D. 2006. Differential sensitivity of C_3 and C_4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. Environment Experimental Botony 58: 106-113. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.06.021.
40. Pettygrove G.S., Wick C.M., Williams J.F., Scardaci S.C., Brandon D.M., and Hill J.E. 1994. Monitoring rice nitrogen status with a chlorophyll meter. Agronomy fact sheet. Series 199: 4-3.
41. Plewa M.J., Smith S.R., and Wanger E.D. 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutat. Research 247:57-64. https://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90033-k.
42. Rabiei V. 2003. Evaluation of response psychological and morphological of grape varieties to drought stress. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran (In Persian)
43. Rasoli V., and Golmohamadi M. 2009. Evaluation of drought tolerance of grape cultivars in Qazvin province. Seed and Plant Breeding Magazine (Seedlings and Seeds). 1-25(2): 349-359. (In Persian)
44. Sairam R.K., Rao K.V., and Srivastava G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037–1046. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9.
45. Sanchez-Rodrıguez E., Rubio-Wilhelmi M., Cervilla L.M., Blasco B., Rios J.J., Rosales M.A., Romero L., and Ruiz J.M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. Plant Science 178: 30–40. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.10.001.

46. Schutz H., and Fangmier E. 2001. Growth and yield responses of spring Wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution 114: 187-194. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00215-3.
47. Siemens J.A., and Zwiazek J.J. 2003. Effects of water deficit stress and recovery on the root water relations of trembling aspen *(Populus tremuloides*) seedlings, Plant Science 165: 113-120. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00149-3.
48. Sinclair, T. R., and M.M. Ludlow. 1985. Who thought plant thermodynamics the unfulfilled potential of plant water potential? Australia. Journal Plant Physiology 33: 312-317. https://doi.org/10.1071/PP9850213.
49. Sofo A., Dichio, B., Xiloyannis C., and Masia A. 2004.Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree Plant Science 166(2): 293-302. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.09.018.
50. Spaeth, S.C., H.C. Randau, T.R. Sinclair and J.S. Vendeland. 1984. Stability of soybean harvest index. Agronomy Journal 76: 482-486. https://doi.org/10.2134/agronj1984.00021962007600030028x.
51. Turkan, I. 2011. Plant responses to drought and salinity stress, Development in a post- Genomic era. Advances in Botanical Research. 593p.
52. Wang W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry 47: 570–577. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.02.009.
53. Xiao X., Xu X., and Yang F. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cothayana* populations. Silva Fennica 42: 705-719. https://doi.org/10.14214/sf.224.
54. Yordanov V., and Tsoev T. 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthica 38: 171-186. https://doi.org/10.1023/A:1007201411474